View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Tsukuba Repository

MMP14 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease

著者	齋藤 渉
内容記述	"2006" Offprint. Originally published in: International journal of molecular medicine, v. 17, no. 4, pp. 621-626, 2006 Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 4425, 2007.3.23 Accompanied by 6 subarticles Includes bibliographical references (leaves)
発行年	2007
その他のタイトル	慢性閉塞性肺疾患におけるmatrix metalloproteinase 14 (MMP14)遺伝子多型の検討
URL	http://hdl.handle.net/2241/91569

【285】

氏　名（本籍）	齋藤　渉（青森県）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	博甲第 4425 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**MMP14 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease** （慢性閉塞性肺疾患における matrix metalloproteinase-14（MMP-14）遺伝子多型の検討）

主　査	筑波大学教授	医学博士	有波忠雄
副　査	筑波大学教授	博士（医学）	朝田　隆
副　査	筑波大学助教授	博士（医学）	堤　明人
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	野口恵美子

論文の内容の要旨

目　　的：

慢性閉塞性肺疾患，COPD 発症に対する最も重要な危険因子は喫煙である。COPD 患者の約 90％は喫煙者であり，喫煙により引き起こされる proteinase/antiproteinase 不均衡が，COPD 発症の主要機序となっていると考えられている。しかしながら COPD は多因子疾患と考えられる。その発症には個人差や人種差が見られ，喫煙者の約 15％にしか COPD を発症しない。また異なった人種間では喫煙による COPD の発症率が異なっている。これらのことより，喫煙肺傷害に対する個体あるいは人種間の感受性の違いが COPD の発症に大きく影響を与えていると考えられる。

COPD の発症機序として，各種の matrix metalloproteinase（MMP）の遺伝子多型と COPD 発症との関係が報告されている。MMP は現在 20 種類以上が知られており，これらの活性が COPD 発症において重要な役割を果たしている。また，MMP 活性の制御に関する重要な機序としては，tissue inhibitor of metalloproteinase（TIMP）を介する制御が考えられており，MMP-14/MMP-2/TIMP-2 システムが肺気腫発症に重要な役割を果たしているとの報告もある。

近年，遺伝子の個人差，特に一塩基遺伝子多型（SNP）と，種々の疾患発症との関連が盛んに研究されている。今回は，COPD 発症に関係していると考えられている種々の MMP のなかで，特に MMP-14 に注目した。MMP-14 遺伝子における多型性と COPD 発症との関連を明らかにするため，既に報告された MMP-14 遺伝子の SNP と疾患発症との因果関係を検討した。

対象と方法：

研究対象として，日本人とエジプト人の 2 民族についてそれぞれ case-control study を行った。喫煙により COPD を発症した日本人の患者 96 名と，対照群として喫煙指数，年齢，性別に差がない日本人の正常者 61 名を選別した。また同時に，エジプト人の COPD 患者 106 名と，対照群として喫煙指数，年齢，性別に差がないエジプト人の正常者 72 名を選別した。

診断は既往歴，理学所見，胸部画像所見，呼吸機能検査にて行った。コントロール群としては，55 才以上で明らかな肺疾患の既往がなく，胸部レントゲン所見が正常，ブリンクマンインデックス 400 以上の喫煙者，かつ呼吸機能検査にて閉塞性障害の無い者とした。

COPD 患者群とコントロール群の間では臨床症状と呼吸機能以外のデータは良くマッチしており，年齢，ブリンクマンインデックスに有意差は無かった。

すべての検体提供者から文書によるインフォームドコンセントを得て血液検体を採取し，ゲノム DNA を抽出した。

MMP-14 遺伝子の配列は dbSNP データベース上に公開されているものを使った。プロモーター領域とエクソン領域に存在する 7 箇所の SNP を選んだ。2 箇所は RFLP 法，他の 5 箇所については，TaqMan allelic discrimination 法を用いて SNP タイピングを行った。

それぞれの民族について，COPD 群と control 群における SNP 頻度の解析を行い，2 群間での出現頻度に有意な差があるか否かを統計学的に解析した。また，各遺伝子多型の連鎖不平衡の有無，ハプロタイプ解析も行った。

結　　果：

日本人においては，3SNP が 10％以上の遺伝子頻度を持つ SNP で，SNP の頻度は Hardy-Weinberg 平衡を満たしていた。+6727C/G の SNP において患者，コントロール間に遺伝子型頻度の分布の偏りがあり，p 値は 0.047 だったが，多変量解析においては有意差を認めなかった。同じくエジプト人については，4SNPs が 10％以上の遺伝子頻度の SNP で，SNP の頻度は Hardy-Weinberg 平衡を満たしていた。エジプト人についても患者，コントロール間に有意な遺伝子型頻度の偏りは見られなかった。

日本人とエジプト人の連鎖不平衡解析では，10％以上の頻度で存在した SNP について解析した。日本人ではすべての SNP について連鎖不平衡が見られ，エジプト人でも一部の SNP で連鎖不平衡が認められた。

日本人において，10％以上の遺伝子頻度をもつ 3 つの SNP について，EM アルゴリズムを用いてハプロタイプ解析を行った。6 種類のハプロタイプが認められ，患者コントロール間に有意差は見られなかった。同じくエジプト人において, 10％以上の遺伝子頻度をもつ 4 つの SNP について, ハプロタイプ解析を行った。12 種類のハプロタイプが認められ，ハプロタイプ（-165T：+221T：+6727C：+7096C）が COPD 患者に有意に多く見られ，補正 p 値は 0.0063 だった。このハプロタイプはエジプト人において COPD の疾患感受性に関与しているものと考えられた。

考　　察：

個々の SNP については両人種とも COPD の疾患感受性との相関を見出すことはできなかったが，ハプロタイプ解析では，単一の遺伝子多型分析のみでは分からない疾患への影響を見出せる可能性がある。

COPD 発症に影響を与える機序としては，アミノ酸への翻訳効率に影響する mRNA の安定性の変化，リボゾームバインディング機能の変化などが考えられる。あるいはまた，COPD の発症に機能的に関与している他の変異と連鎖不平衡の関係にあるのかもしれない。

リスクアレルの頻度が，民族間で違う理由としては，一つには，COPD が複数の因子から影響を受けて発症するためと考えられ，また一方では，異なった人種間では COPD の疾患要素が異なっている可能性も考えられる。

MMP-14 の遺伝子多型と COPD の疾患感受性との関連については，エジプト人においてハプロタイプ（-165T：+221T：+6727C：+7096C）の発現頻度が，コントロール群に比べ COPD 群において有意に高率に認められた。疾患群において有意差を示す SNP やハプロタイプの存在は，個人の COPD 発症の感受性を予

想するのみでなく，早期に介入することによって疾患の進行を予防することにも有用であると考えられる。

結　　論：

エジプト人において，ハプロタイプ（-165T：+221T：+6727C：+7096C）は，COPD 発症に関与している可能性があり，また疾患感受性のマーカーとなりうることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は慢性閉塞性肺疾患に関連するハプロタイプを持つ遺伝子を症例・対照解析を用いて 2 民族で解析し，エジプト人において関連ハプロタイプを検出し，報告したものである。本論文はすでに International Journal of Molecular Medicine に出版されている。サンプル数が少ないことや多型の選択法に合理性がない点，多型そのものではなく計算上のハプロタイプとの関連であることなどの弱点を持つデータであるが，候補遺伝子の選択法，症例・対照解析の方法はオーソドックスなものであり，また慢性閉塞性肺疾患の遺伝子解析の論文が少ないこともあり，この分野に対する貢献は大きいものと判断された。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。